

EGYES TEJTERMÉKEK FEHÉRJETARTALMÁNAK TELJES OLDÁSON ALAPULÓ SPEKTROFOTOMETRIÁS MÉRÉSE

DR. GÁBOR MIKLÓSNÉ*

1. Bevezetés

A tejfehérjék megfelelő oldószerben oldva 280 nm értéknél maximális abszorpciót adnak, mely alkalmas mennyiségi meghatározásra, a spektrofotometriás mérések-nél ismert törvényszerűségek alapján.

Tej fehérjetartalmának ilyen jellegű mérésére már több közlemény látott napvilágot (1., 2., 3.).

Az eljárást megpróbáltuk kiterjeszteni savanyított tejtermékek össz-fehérje-tartalmának meghatározására. Kísérleteinknél tejföllel (MSZ 12 253) dolgoztunk.

2. Felhasznált eszközök és vegyszerek

Spektromom 201 fotométer; 1,00 cm kvarcküvetta,
Ecetsav, alt 97%,
Nátrium-hidroxid; 0,1 normalitású.

3. A vizsgálandó anyag oldása

Ez az egész eljárás alapja. Addig, amíg a tejfehérjék 97%-os ecetsav meghatározott mennyiségével kristálytisztá oldattá alakulnak, ez tejfölnél nem volt kivitelezhető. Az oldásra többféle reagenst próbáltunk ki eredmény nélkül. Végül is két lépésben sikerült kristálytisztá oldatot nyernünk:

0,1 n nátrium-hidroxiddal időben stabilis homogén szuszpenziót képeztünk, majd ezt ecetsavban oldottuk.

4. A meghatározás menete

A gondosan homogenizált tejfölből 1,00 g-ot bemérünk 50 cm³-es főzőpohárba. Először 3,00 cm³ nátrium-hidroxid-oldattal homogén szuszpenziót állítunk elő, melyet újabb 4,00 cm³ lúgoldattal hígítunk. Ebből 0,80 cm³-t üveg dugós kémcsőbe pipetázunk, 30,00 cm³ ecetsavat mérünk hozzá, és lúgoldattal 31,00 cm³-re egészítjük ki.

A gondos összekeverés után kapott kristálytisztá oldatot fotometráljuk 280 nm értéknél, kvarcküvettaiban.

* Kémia Tanszék

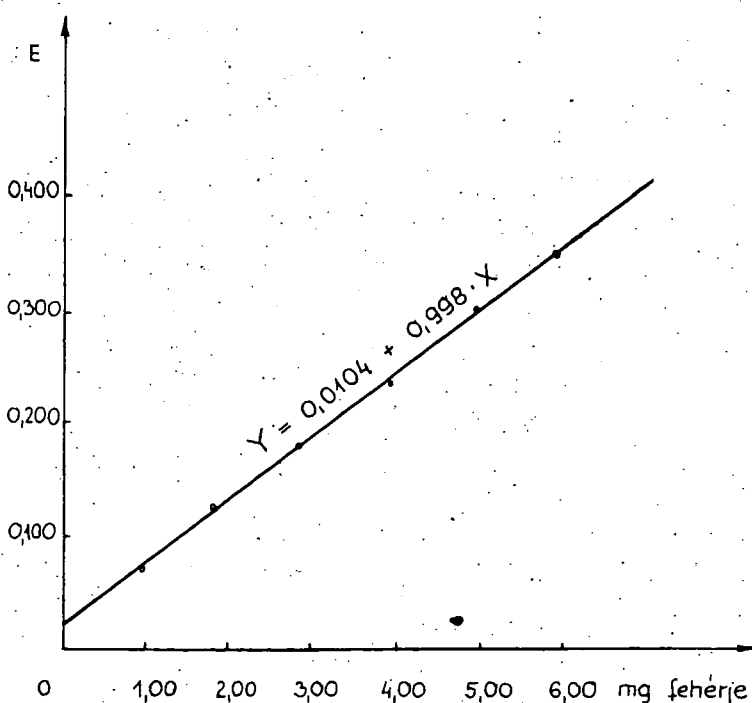
A fotometrálnál felhasznált kompenzáló oldat az előzőeknek megfelelő vegyszerekből és hígítással készül, azzal az eltéréssel, hogy a tejfől helyett 1,000 g desztillált vizet mérünk be.

A leolvasott extinkcióértékből kalibrációs egyenes segítségével számoljuk a fehérjetartalmat.

5. Kalibrációs egyenes készítése

A 4. pont szerint elkészített tejfől-szuszenzióból 0,50, 0,80 és 1,00 cm³-et pipettázunk kémcsövekbe és lúgoldattal az első kettőt 1,00 cm³-re egészítjük ki. A vizsgálandó mintákat 30,00 cm³ ecetsavban oldjuk, és gondos homogenizálás után fotometráljuk.

Meghatározzuk a tejfől fehérjetartalmát Kjeldahl szerint, melyet 100 g tejfőlre vonatkoztatva adunk meg. Az így kapott értékből a továbbiakban kiszámolható a



1. ábra. Tejfől fehérjetartalom-meghatározás kalibrációs egyenese

fotometrálnál felhasznált tejfől mennyiségének megfelelő Kjeldahl szerinti fehérjetartalom. Ezt hozzuk összefüggésbe a vonatkozó extinkcióértékekkel. Az általunk mért adatokból képzett kalibrációs egyenest az 1. ábra szemlélteti.

A további vizsgálatok során a mért extinkcióértéknek megfelelő, a kalibrációs egyenesről leolvasható fehérjetartalom (a hígítást és grammra való átszámítást figyelembe véve) egyben a tejfől fehérjetartalma is %-ban.

6. A módszer pontossága

A fotometriás eljárás pontosságát matematikai úton is értékeltük. A magyar kutatók által is ajánlott (4) Deming képletet használtuk a korreláció megállapítására. Alapmódszernek a Kjeldahl vizsgálatot vettük.

A méréseink során nyert adatokat az 1—5. táblázatokban tüntettük fel.

1. TÁBLÁZAT

Tejföl fehérjetartalma Kjeldahl szerint

Fehérjetartalom % x_i	Átlagtól való eltérés $\bar{x} - x_i$
3,290	-0,014
3,280	-0,004
3,267	+0,009
3,265	+0,011
3,282	-0,006
3,285	-0,009
3,280	-0,004
3,270	+0,006
3,272	+0,004

$$\begin{aligned}\Sigma x &= 29,491 \\ \Sigma x^2 &= 96,6358 \\ \bar{x} &= 3,276 \\ S_x &= 0,0025\end{aligned}$$

3. TÁBLÁZAT

0,80 ml tejföl-szuszpénzió extinkcióértékei, s a Kjeldahl szerint megfelelő fehérjetartalmak

Extinkció	Fehérje-tartalom mg	Fehérje-tartalom % y_i	Átlagtól való eltérés $\bar{y} - y_i$
0,180	3,276	3,276	0,000
0,165	3,265	3,265	+0,011
0,169	3,269	3,269	+0,007
0,179	3,279	3,279	-0,003
0,180	3,280	3,280	-0,004
0,185	3,285	3,285	-0,009
0,172	3,272	3,272	+0,004
0,168	3,268	3,268	+0,008
0,182	3,282	3,282	-0,006

$$\begin{aligned}\Sigma y_i &= 29,476 & Y &= 0,0247 + 0,992X \\ \bar{y} &= 3,276 & E &= 0,972 \\ \Sigma xy &= 95,8998 & \frac{1}{0,972} &= 1,028 \\ S_y &= 0,00283\end{aligned}$$

2. TÁBLÁZAT

0,50 ml tejföl-szuszpénzió extinkcióértékei, s a Kjeldahl szerinti megfelelő fehérjetartalmak

Extinkció	Fehérje-tartalom mg	Fehérje-tartalom % y_i	Átlagtól való eltérés $\bar{y} - y_i$
0,123	2,071	3,294	-0,009
0,120	2,068	3,289	-0,004
0,108	2,062	3,279	+0,006
0,103	2,059	3,274	+0,011
0,123	2,070	3,292	-0,007
0,125	2,071	3,294	-0,009
0,120	2,068	3,289	-0,004
0,112	2,064	3,282	+0,003
0,110	2,062	3,280	+0,005

$$\begin{aligned}\Sigma y_i &= 29,573 & Y &= 0,0025 + 1,002X \\ \bar{y} &= 3,285 & E &= 0,88 \\ \Sigma xy &= 96,9062 & \frac{1}{0,88} &= 1,13 \\ S_y &= 0,00282\end{aligned}$$

4. TÁBLÁZAT

1,00 ml tejföl-szuszpénzió extinkcióértékei, s a Kjeldahl szerint megfelelő fehérjetartalmak

Extinkció	Fehérje-tartalom mg	Fehérje-tartalom % y_i	Átlagtól való eltérés $\bar{y} - y_i$
0,231	4,090	3,272	-0,005
0,223	4,072	3,258	+0,009
0,222	4,070	3,256	+0,011
0,233	4,092	3,274	-0,007
0,235	4,095	3,276	-0,009
0,229	4,087	3,270	-0,003
0,225	4,076	3,261	+0,006
0,232	4,091	3,273	-0,006
0,230	4,088	3,271	-0,004

$$\begin{aligned}\Sigma y_i &= 29,411 & Y &= 0,0042 + 0,996X \\ \bar{y} &= 3,267 & E &= 0,886 \\ \Sigma xy &= 96,3130 & \frac{1}{0,886} &= 1,12 \\ S_y &= 0,0028\end{aligned}$$

5. TÁBLÁZAT

A 2—4. táblázatokban feltüntetett extinkcióértékek és Kjeldahl szerinti fehérjetartalmak átlagértékei

Extinkció	0,116	0,178	0,227
Fehérjetartalom Kjeldahl szerint (mg)	2,047	3,276	4,095

A kapott regressziós egyenes:

$$Y = 0,0104 + 0,996x$$

Az érzékenységi hányados:

$$E \left\{ \frac{x}{y} \right\} = 0,996 \frac{0,00250}{0,00281} = 0,876.$$

Az eredmények azt mutatják, hogy a spektrofotometriásan kapott fehérjetartalom értékek jól egyeznek a Kjeldahl adatokkal.

8. Összefoglalás

A teljes oldáson alapuló spektrofotometriás eljárás igen gyors módszer. Egy meghatározás közepes munkatempó mellett kb. 5 perc. Elvileg nem költségigényes, mivel az UV spektrofotométer már igen sok laboratóriumban megtalálható, s széles körben felhasználható egyéb mérésekhez.

A módszert — a Kjeldahl eljáráshoz viszonyítva — pontosnak tartjuk.

Gyorsasága révén alkalmas sorozatvizsgálatok elvégzésére, gyártásközi fázisvizsgálatokra, minőségalkulás felmérésére.

*

A mérések során Szolcsányi Józsefné szakoktató igen gondos, lelkiismeretes munkájával nagymértékben hozzájárult a sikeres eredményekhez.

Jancsó Ilona, a főiskola volt hallgatója a matematikai számításoknál is segítséget nyújtott.

Mindkettőjüknek ezúton is köszönetemet fejezem ki.

IRODALOM

1. S. Nakai, H. K. Wilson, E. O. Herreid: J. Dairy Sci., 47, 356, (1964)
2. S. Nakai, A. Ch. Le.: J. Dairy Sci., 53, 276, (1970)
3. S. J. Toma, S. Nakai: J. Food Sci., 36, 507, (1971)
4. Zukál E.—Fényes T.—Körmendy L.: Kísérletiügyi Közlemények 63/E, 1—3. sz. 41, (1970).

SPECTROPHOTOMETRIC MEASUREMENT OF THE PROTEIN CONTENTS OF MILK AND CERTAIN MILK PRODUCTS, BASED ON COMPLETE DISSOLUTION

E. Gábor

The principle of the procedure is that the substance to be examined is dissolved completely with appropriate solvents. After recording of the spectrum of the crystal-clear solution, quantitative measurements are made at the wavelength of the absorption maximum characteristic of the protein. In the measurement of unknown samples the protein content is obtained with the aid of the extinction values and a calibration straight line. The measurement is very rapid, requiring only about five minutes.

The procedure has nearly the same accuracy as the Kjeldahl determination of protein content.

SPKTRPHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG DES EIWEISSGHELTES DER MILCH UND EINIGER MILCHPRODUKTE AUFGRUND TOTALER LÖSUNG DES TESTMATERIALS

E. Gábor

Das Wesen des Verfahrens ist, dass das zu untersuchende Material mit entsprechenden Chemikalien völlig zur Lösung gebracht wird. Nach der Aufnahme des Spektrums der kristallklaren Lösung erfolgt die quantitative Messung bei der für Eiweiss charakteristischen Absorptionsmaximum-Wellenlänge. Aus den bei der Messung der zu testenden Proben erhaltenen Extinktionswerten wird mit Hilfe einer Kalibrationsgeraden der Eiweissgehalt ermittelt. Die Messung ist sehr schnell — binnen etwa 5 Minuten — durchführbar.

Die Genauigkeit des Verfahrens kommt jener der Eiweissgehaltbestimmung nach Kjeldahl ungefähr gleich.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗМЕРЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В МОЛОКЕ И РАЗЛИЧНЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ, ОСНОВАННОЕ НА ПОЛНОМ РАСТВОРЕНИИ

E. Gábor

Принцип метода — полное растворение исследуемого материала с помощью соответствующих химикатов. После получения спектра кристалльно-чистого раствора количественные измерения следует производить при показателе максимальной длины волны, характерной для белков. Из экстенкционных показателей, полученных при измерении растворов исследуемых проб с помощью калибрационной прямой, можно получить содержание белка. Метод измерения очень быстрый, может быть проведен в течение приблизительно 5 минут.

По точности данный метод измерения содержания белка приближается к методу Кельдаля.